

<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-2-supplement-115-120>



Сравнительное исследование клеточного транспорта в эндотелии роговицы глаза свиньи и человека

Г.С. Батурина¹, Л.Е. Каткова¹, И.М. Кузеина², И.Г. Пальчикова^{2, 3}, Е.И. Соленов^{1, 2, 4}, И.А. Исаков⁵ ✉

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН», пр-т акад. Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090, Россия

² ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», ул. Пирогова, д. 2, Новосибирск, 630090, Россия

³ ФГБУН «Конструкторско-технологический институт научного приборостроения Сибирского отделения РАН», ул. Русская, д. 41, Новосибирск, 630058, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный технический университет», пр-т Карла Маркса, д. 20, Новосибирск, 630073, Россия

⁵ Новосибирский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, ул. Колхидская, д. 10, Новосибирск, 630096, Россия

Цель работы — исследовать основные характеристики транспортных механизмов клеток эндотелия роговицы человека и свиньи: водную проницаемость, активацию транспорта натрия из клетки после консервации и способность клеток к восстановлению объема при активации транспортных механизмов клеток эндотелия при температуре 37°C. **Материал и методы.** Эксперименты проводили на переживающей культуре клеток эндотелия роговицы человека и свиньи. Изменения объема клетки определяли методом, основанным на эффекте гашения флуоресцентного красителя Calcein белками цитоплазмы. Внутриклеточную концентрацию ионов натрия в клетках определяли с помощью флуоресцентного красителя Sodium Green. Динамику восстановления клеточного объема и внутриклеточной концентрации ионов натрия изучали при изменении температуры среды с 20 до 37°C. Осмотическую водную проницаемость клеток эндотелия определяли по скорости изменения объема клетки при смене осмоляльности омывающей среды с гипертонической (560 мОсм/кг H₂O) на изотоническую (280 мОсм/кг H₂O). **Результаты.** Установлено, что осмотическая водная проницаемость плазматической мембраны клеток эндотелия роговицы человека значительно выше, чем у свиньи P_f ($1,90E-01 \pm 4,66E-02$ и $1,31E-01 \pm 1,16E-02$ см/с соответственно; $p < 0,01$, $n = 17$). Выведение ионов натрия при восстановлении температуры до 37°C происходит в клетках человека более интенсивно, чем в клетках свиньи ($-3,2E-3 \pm 3,1E-4$ с⁻¹ и $-6,5E-4 \pm 1,2E-5$ с⁻¹ соответственно; $p < 0,01$, $n = 6$). Исследование снижения объема клеток, вызванного тепловой активацией клеточного транспорта, показало, что восстановление объема эндотелиоцитов у человека ($-1,7E-4 \pm 5,5E-5$ с⁻¹, $n = 9$) происходит медленнее, чем у свиньи ($-1,7E-3 \pm 4E-4$ с⁻¹, $n = 4$, $p < 0,05$). **Заключение.** При использовании в экспериментальном исследовании эндотелия роговицы свиньи как модели эндотелия человека необходимо учитывать существенные различия параметров, определяющих регуляцию клеточного объема.

Ключевые слова: эндотелий роговицы; гипотермическая консервация; внутриклеточный натрий

Конфликт интересов: отсутствует.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Работа поддержана бюджетным проектом № FWNR-2022-0019 и грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 20-015-00147, 19-08-00874.

Для цитирования: Батурина Г.С., Каткова Л.Е., Кузеина И.М., Пальчикова И.Г., Соленов Е.И., Исаков И.А. Сравнительное исследование клеточного транспорта в эндотелии роговицы глаза свиньи и человека. Российский офтальмологический журнал. 2022; 15 (2) (Приложение): 115-20. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-2-supplement-115-120>

A comparative study of endothelial cell transport in pig and human cornea

Galina S. Baturina¹, Liubov E. Katkova¹, Irina M. Kuseina², Irina G. Palchikova^{2, 3}, Evgeny I. Solenov^{1, 2, 4}, Igor A. Iskakov⁵ ✉

¹ Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10 Lavrentyev Avenue, Novosibirsk, 630090, Russia

² Novosibirsk State University, 2, Pirogova, Novosibirsk, 630090, Russia

³ Technological Design Institute of Scientific Instrument Engineering, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 41, Russkay St., Novosibirsk, 630058, Russia

⁴ Novosibirsk State Technical University, 20, Karl Marx Avenue, Novosibirsk, 630073, Russia

⁵ S. Fyodorov Eye Microsurgery Clinic, Novosibirsk Branch, 10, Kolkhidskaya St., Novosibirsk, 630096, Russia
i.iskakov@mntk.nsk.ru

Purpose. To study the basic transport characteristics of human and pig corneal endothelial cells, including osmotic water permeability, activation of sodium transport from the cell after conservation, and the ability of the cells to restore their volume when transport mechanisms of the endothelial cells are activated at 37°C. **Material and methods.** The experiments were held on the primary cell culture of human and pig cornea endothelia. Changes in cell volume were determined by a method based on quenching of Calcein fluorescence probe by the cytosol proteins. Changes in intracellular sodium ion concentration were studied using Sodium Green as a fluorescent probe. Restoration dynamics of cell volume and intracellular sodium concentration were studied under medium temperature changes from 20 to 37°C. Osmotic water permeability was calculated from the rate of cell volume changes under medium osmolality decreasing from 560 to 280 mOsm/kg H₂O. **Results.** It was established that human endothelial cells plasma membrane has a significantly higher osmotic water permeability than pig endothelial cells ($P_f = 1.90E-01 \pm 4.66E-02$ and $1.31E-01 \pm 1.16E-02$ cm/s, respectively; $p < 0.01$, $n = 17$). Human cells after the temperature restored to 37°C, sodium ions removal from human cells occurs more intensely than from pig cells ($-3.2E-3 \pm 3.1E-4$ c⁻¹ u $-6.5E-4 \pm 1.2E-5$ s⁻¹, respectively; $p < 0.01$, $n = 6$). The study of cell volume drop has shown that heat activation of cellular transport restores the endothelial cell volume in humans more slowly ($-1.7E-4 \pm 5.5E-5$ c⁻¹, $n = 9$) than that of pig cells ($-1.7E-3 \pm 4E-4$ s⁻¹, $n = 4$, $p < 0.05$). **Conclusion.** When using the endothelium of pig cornea as an experimental model of human endothelium, we need to take into account the significant difference in parameters that determine cell volume regulation.

Keywords: corneal endothelium; hypothermic conservation; intracellular sodium

Conflict of interests: there is no conflict of interests.

Financial disclosure: no author has a financial or property interest in any material or method mentioned. The study was supported by the budget project No. FWNR-2022-0019 and a Russian Foundation for Basic Research grant No. 20-015-00147, 19-08-00874.

For citation: Baturina G.S., Katkova L.E., Kuseina I.M., Palchikova I.G., Solenov E.I., Iskakov I.A. A comparative study of endothelial cell transport in pig and human cornea. Russian ophthalmological journal. 2022; 15 (2) (supplement): 115-20 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-2-supplement-115-120>

Роговица является наружным преломляющим оптическим элементом глаза, который обеспечивает проведение видимого света до сетчатки. Роговица состоит из трех основных слоев: наружного, содержащего эпителий, среднего стромального слоя и внутреннего слоя эндотелиальных клеток. Строма образует основную часть структурного каркаса роговицы и составляет примерно 80–85% ее толщины. Она состоит из регулярно расположенных коллагеновых фибрилл и межфибрилярного пространства, содержащего гликозаминогликаны. Нарушение содержания воды в строме (в норме ~78% веса) изменяет степень гидратации коллагеновых волокон, что является критическим для прозрачности роговицы [1, 2]. При нарушении прозрачности роговицы наиболее распространенным методом восстановления зрения является кератопластика. В настоящее время усилия исследователей направлены на решение проблемы риска дисфункции трансплантата. Развиваются новые способы высокоточных разрезов тканей донора и реципиента с помощью фемтосекундных импульсных лазеров, усовершенствуются методы хранения и консервации ткани. Для исследования воздействия условий консервации на функ-

ции клеток эндотелия используют экспериментальную модель, в качестве которой в настоящее время часто используют роговицу свиньи.

В глазу осмотический баланс стромы роговицы определяется динамическим равновесием выведения и поступления воды и осмолитов. Эти процессы часто описывают с помощью так называемого механизма Pump-Leak транспорта осмолитов и воды. Поступление воды в строму (leak) происходит пассивно в силу проницаемости эндотелия для воды и осмолитов и благодаря градиенту осмотического давления между стромой и жидкостью в передней камере глаза. Удаление воды из стромы (pump) обусловлено Na, K-АТФазой и системой, включающей транспорт HCO₃⁻ и Cl⁻, а также активностью карбоангидраз [3]. Оба процесса определяются молекулярными механизмами клеток эндотелия роговицы. Эндотелий (задний эпителий) роговицы, представляющий собой монослой гексагональных клеток на внутренней поверхности роговицы, является одной из наиболее метаболически активных тканей организма. Показано, что клетки эндотелия роговицы человека заблокированы в G1-фазе клеточного цикла и по этой причине не проходят митоти-

ческое деление. Клетки эндотелия роговицы поляризованы, апикальная и базолатеральная плазматические мембраны различаются по составу экспрессируемых транспортных механизмов [4]. Апикальная поверхность обращена в переднюю камеру глаза, содержит хлоридные и водные каналы AQP1 [5]. Базолатеральная поверхность обращена к десцеметовой мембране и содержит механизмы активного энергозависимого транспорта, в частности Na, K-ATPase [2]. В глазу поступление воды в строму зависит от проницаемости клеток эндотелия для воды при условии целостности монослоя, а насосная функция определяется интенсивностью энергозависимого транспорта в этих клетках [6, 7].

В качестве материала для трансплантации используют препараты донорской роговицы из глазных банков, где они исследуются на пригодность к трансплантации и затем хранятся в консервационной среде при пониженной температуре (холодовая консервация) [8]. Нарушение механизма регуляции осмотического баланса роговицы влияет на возможность ее использования при разных видах кератопластики. При холодной консервации водно-электролитный обмен в клетках эндотелия остановлен, поскольку определяется транспортными механизмами клеток, которые подавлены при пониженной температуре. Остановка насосной функции эндотелия приводит к установлению осмотического равновесия ткани со средой консервации и сопровождается набуханием препарата. Для улучшения результатов трансплантации становится важным восстановление нормального объема донорской роговицы (десвеллинг), процесс, который зависит от восстановления насосной функции клеток эндотелия и сохранения их барьерных свойств. Исследование фундаментальных характеристик транспортных механизмов клеток эндотелия роговицы человека и свиньи необходимо для наиболее адекватного понимания экспериментальных результатов, полученных на модели, и их использования при разработке более совершенных методов консервации.

ЦЕЛЬ работы — исследовать основные характеристики транспортных механизмов клеток эндотелия роговицы человека и свиньи: водную проницаемость, активацию транспорта натрия из клетки после консервации и способность клеток к восстановлению объема при активации транспортных механизмов клеток эндотелия при температуре 37°C.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Культура клеток и микроскопия. Исследовали влияние гипотермической консервации роговицы свиньи и человека на способность эндотелиоцитов восстанавливать внутриклеточную концентрацию натрия ($[Na^+]_i$) после прекращения гипотермии. Фрагменты роговицы человека в виде трепанированных дисков получали в процессе выполнения сквозной кератопластики у пациентов с кератоконусом. Препараты роговицы свиньи (*sus scrofa domesticus*) получали трепанацией через 6–8 ч после забоя животных. Диски роговицы помещали в чашки Петри, заполненные культуральной средой L-15 Leibovitz (Sigma, США). Препараты роговицы свиньи и человека находились в консервационной среде Eusol-C (Alchimia, Италия) 2 сут при 4°C. Переживающую культуру клеток эндотелия роговицы получали переносом клеток на покровное стекло. С этой целью фрагмент роговицы инкубировали в растворе коллагеназы (1 мг/мл Collagenase, Sigma (США) в PBS при 37°C, 30 мин), затем делали отпечаток эндотелия на покровное стекло, покрытое полилизинном (Poly-L-lysine solution 0,1% (w/v) H₂O, Sigma, США). Таким методом получали препарат клеток эндотелия, обращенных базальной стороной в сторону омывающего раствора.

Экспериментальная установка представляла собой проточную камеру, разработанную для использования с флуоресцентным микроскопом Observer-Z1 (объектив Fluor 20x/0,75 M27, Zeiss, Германия). Объем камеры составлял около 50 мкл, скорость протекания раствора — 25 мл/мин, смена омывающего раствора происходила в течение 100 мс, поддерживаемая температура — 36,8 ± 0,2°C. Флуоресцентный сигнал клеток записывали с помощью фотосенсора Hamamatsu H7827-011, используя набор фильтров и дихроическое зеркало № 009 (Zeiss, Германия). Регистрацию сигнала проводили с помощью цифрового осциллографа «АКТАКОМ АСК-3102» с интервалом 10 мс на протяжении всего эксперимента при низкой интенсивности возбуждающего света, что позволяло избежать выгорания флуорофора во время эксперимента. Сигнал регистрировали с дигитализацией 8 бит и сохраняли на компьютере.

Измерение динамики концентрации внутриклеточного натрия и оценка клеточного объема. Активность ионов натрия в клетках $[Na^+]_i$ определяли флуориметрическим методом с помощью флуоресцентного красителя Sodium Green (Molecular Probes, США). Клетки инкубировали в среде L-15 Leibovitz с конечной концентрацией Sodium Green TA 10⁻⁵М (40 мин, 37°C). Стекла с клетками помещали в камеру флуоресцентного микроскопа и проводили измерения согласно протоколу [9].

Для изучения изменений объема клетки применяли метод, основанный на эффекте гашения флуоресцентного красителя Calcein белками цитоплазмы [10]. Загрузка клеток красителем производилась в среде L-15 Leibovitz с конечной концентрацией Calcein AM (Sigma, Германия) 10 мкМ, DMSO 1%. Время инкубации — 15 мин при 37°C.

В ходе эксперимента по оценке динамики восстановления клеточного объема клетки находились при температуре 20°C, затем температуру повышали до 37°C. Экспериментальные записи изменения флуоресценции нормировали по амплитуде и для оценки скорости изменения как внутриклеточного натрия, так и клеточного объема находили коэффициент линейной регрессии начального участка кривой флуоресценции.

Для измерения водной проницаемости клеток эндотелия регистрировали динамику изменения объема клетки при смене осмоляльности омывающей среды с гипертонической (560 мОсм/кг H₂O) на изотоническую (280 мОсм/кг H₂O). На основании полученных коэффициентов линейной регрессии флуоресценции Calcein рассчитывали величину осмотической водной проницаемости (P_r), как это описано нами ранее [11].

Статистическая обработка. Для интенсивности флуоресценции рассчитывали среднее значение, дисперсию и стандартную ошибку среднего. Достоверность различий определяли с применением t-критерия.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Осмотический баланс стромы роговицы определяется динамическим равновесием выведения и поступления воды и осмолитов. Эти процессы можно описывать с помощью так называемого механизма Pump-Leak транспорта осмолитов и воды. Скорость поступления воды в строму (leak) определяется величиной градиента осмотического давления между ней и жидкостью в передней камере глаза и осмотической водной проницаемостью клеток эндотелия для воды. Межклеточный поток воды через плотные соединения, по видимому, незначителен [12]. Из результатов экспериментов по изменению клеточного объема при быстром (< 0,1 с) снижении осмотического давления окружающей среды сле-

дует, что водная проницаемость плазматической мембраны клеток эндотелия роговицы человека значительно выше, чем у свиньи P_f (см/с) ($1,90E-01 \pm 4,66E-02$; $1,31E-01 \pm 1,16E-02$; $t = 3,93187$; $p = 5,9E-4$; $n=17$) (рис. 1).

В глазу насосная функция определяется интенсивностью энергозависимого транспорта в клетках эндотелия роговицы. Удаление воды из стромы (pump) обусловлено выведением главным образом ионов натрия Na/K-АТФазой [6, 7]. В клетках эндотелия роговицы апикальная и базолатеральная плазматические мембраны различаются по составу

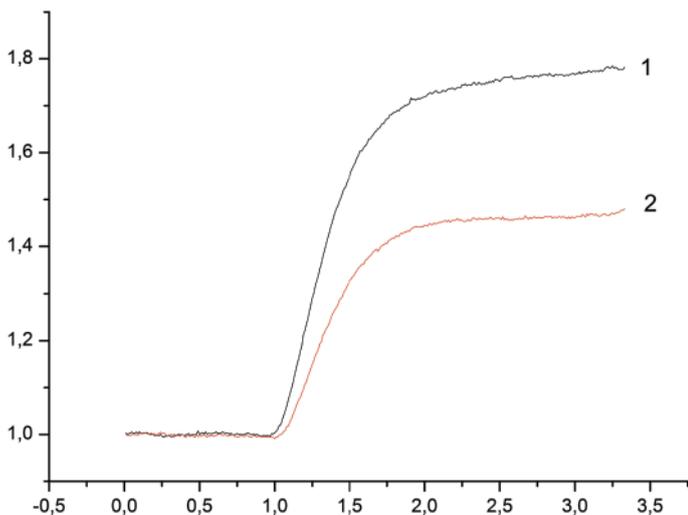


Рис. 1. Динамика возрастания клеточного объема клеток эндотелия роговицы при снижении осмоляльности среды с 560 до 280 мОсм/кг H_2O : 1 — человека; 2 — свиньи. Типичные профили относительной флуоресценции Calcein (F/F0). Оси: абсцисс — секунды; ординат — относительная флуоресценция (F/F0)

Fig. 1. Swelling dynamics of corneal endothelial cells after decreasing osmolality of the medium from 560 to 280 mOsm/kg H_2O : 1 — human; 2 — pig. Typical profiles of relative fluorescence of Calcein (F/F0). Axis: abscises — seconds; ordinates — relative fluorescence (F/F0)

экспрессируемых транспортных механизмов [4]. Энергозависимый транспорт ионов натрия преимущественно осуществляется молекулярными механизмами клеток эндотелия роговицы на базолатеральной поверхности клеток, что позволяет использовать культуру клеток эндотелия, обращенную базолатеральной поверхностью к омывающей среде. Изменения активности внутриклеточного натрия определяли в условных единицах как величину относительной флуоресценции красителя Sodium Green (F/F0) при линейной аппроксимации начального, близкого к линейному, участка профиля флуоресценции (человек $-3,2E-3 \pm 3,1E-4 c^{-1}$), (свинья $-6,5E-4 \pm 1,2E-5 c^{-1}$) ($t = 8,2$; $p < 0,01$) ($n = 6$). Полученные результаты позволяют предположить, что в клетках эндотелия человека выведение ионов натрия при восстановлении температуры до $37^\circ C$ происходит более интенсивно, чем в клетках свиньи. Повышение температуры с 20 до $37^\circ C$ активирует Na/K-АТФазу, что запускает интенсивное выведение ионов натрия из клеток (рис. 2).

Эксперименты с температурной активацией насосной активности клеток эндотелия позволили сделать заключение, что кинетика этого процесса отражает интегральную эффективность насосной функции эндотелия (рис. 3).

Исследование снижения объема клеток, вызванного тепловой активацией клеточного транспорта и определяемого как изменение относительной флуоресценции красителя Calcein (F/F0) в клетках эндотелия роговицы с начальной скоростью снижения, позволяет предположить, что восстановление объема эндотелиоцитов у человека ($-1,7E-3 \pm 4E-4 c^{-1}$, $n = 9$) происходит медленнее, чем у свиньи ($-1,7E-4 \pm 5,5E-5 c^{-1}$, $n = 4$, $p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты позволяют заключить, что при использовании в экспериментальном исследовании эндотелия роговицы свиньи как модели эндотелия человека необходимо учитывать существенные различия параметров, определяющих регуляцию клеточного объема. В охлажденной, деполяризованной клетке устанавливается равновес-

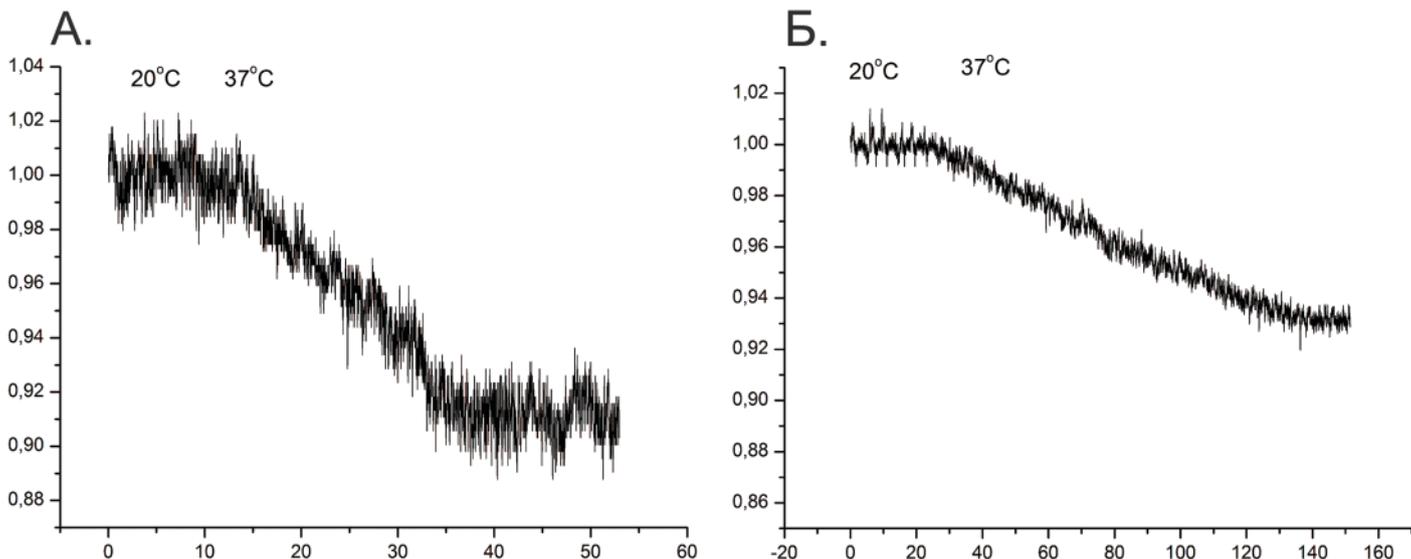


Рис. 2. Динамика снижения внутриклеточной концентрации ионов натрия в клетках эндотелия роговицы при повышении температуры среды с 20 до $37^\circ C$: А — человека; Б — свиньи. Типичные профили относительной флуоресценции Sodium Green (F/F0). Оси: абсцисс — секунды; ординат — относительная флуоресценция (F/F0)

Fig. 2. Decreasing dynamics of intracellular sodium concentration in corneal endothelial cells after increasing temperature of the medium from 20 to $37^\circ C$: А — human; Б — pig. Typical profiles of relative fluorescence of SodiumGreen (F/F0). Axis: abscises — seconds; ordinates — relative fluorescence (F/F0)

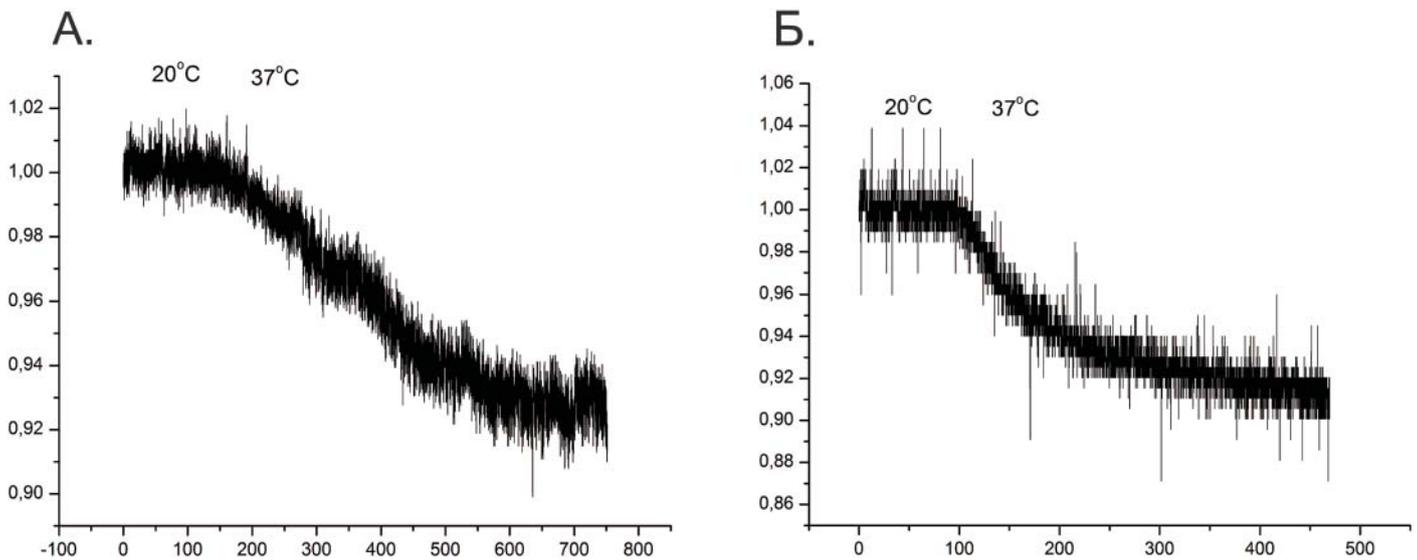


Рис. 3. Снижение объема клеток эндотелия роговицы при повышении температуры среды с 20 до 37°C: А — человека; Б — свиньи. Типичные профили относительной флуоресценции Calcein (F/F₀). Оси: абсцисс — секунды; ординат — относительная флуоресценция (F/F₀)

Fig. 3. Decreasing of cellular volume of corneal endothelial cells after increasing temperature of the medium from 20 to 37°C: А — human; Б — pig. Typical profiles of relative fluorescence of Calcein (F/F₀). Axis: abscises — seconds; ordinates — relative fluorescence (F/F₀)

ная со средней концентрацией ионов, которая значительно выше нормальных уровней, характерных для живой клетки. Такое повышение концентрации ионов в клетке формирует осмотический градиент, что вызывает поступление воды и повышение клеточного объема. Основным источником энергии для векторного транспорта ионов через плазматическую мембрану является Na/K-АТФаза, создающая градиент электрохимического потенциала натрия, что является вторичным источником энергии для многих транспортных процессов в клетке и выполнения клетками насосной функции (pump) [6, 7]. При пониженной температуре Na/K-АТФаза не активна. В настоящей работе мы исследовали динамику снижения концентрации внутриклеточного натрия в результате выведения его ионов из клетки при повышении температуры среды. Поскольку повышение температуры до 37°C вызывает активацию Na/K-АТФазы, исследование динамики выхода натрия из клетки может быть показателем восстановления насосной функции клеток.

Результаты нашего исследования позволили оценить скорость выведения ионов натрия по профилю флуоресценции специфического для натрия флуоресцентного красителя Sodium Green. Скорость снижения концентрации внутриклеточного натрия значительно меньше в клетках эндотелия свиньи, чем в клетках человека, что, по-видимому, следует учитывать при использовании роговицы свиньи в качестве экспериментальной модели. Ранее мы показали, что холодовая консервация в зависимости от длительности снижает интенсивность выведения ионов натрия из клеток эндотелия роговицы, что в сочетании с повышением проницаемости плазматической мембраны для этого иона ведет к установлению более высокого стационарного уровня натрия в клетках эндотелия [13]. Результаты настоящего исследования позволяют предположить, что динамика внутриклеточной концентрации натрия может являться параметром, отражающим функциональную активность насосной функции клеток и степень жизнеспособности эндотелия трансплантата роговицы. Наиболее интегральным показателем восстановления активности механизма регуляции клеточного объема может служить скорость его восстановления после прекращения холодовой консервации. Снижение клеточного объема

в процессе выведения ионов из клетки отражается в снижении флуоресцентного сигнала красителя Calcein. В препарате роговицы, помещенном в изотонический раствор PBS, снижение клеточного объема при повышении температуры с 20 до 37°C в наших экспериментах происходит с начальной скоростью ($1,7E-3 \pm 4E-4 \text{ c}^{-1}$, свинья, $n = 9$) ($-1,7E-4 \pm 5,5E-5 \text{ c}^{-1}$, человек, $n = 4$, $p < 0,05$), (рис. 3). Более высокая скорость восстановления клеточного объема клеток эндотелия свиньи, наблюдаемая в этих экспериментах, несмотря на менее интенсивное выведение ионов натрия по сравнению с клетками человека, по-видимому, объясняется тем, что в системе pump-leak интенсивность поступления воды в клетку, связанная с более высокой осмотической проницаемостью клеток человека, достаточно высока, чтобы нивелировать эффект от большей скорости выведения натрия.

Результаты исследования интегральной pump-leak-функции эндотелия фрагмента препарата роговицы позволяют говорить о перспективности такого подхода. Эксперименты с температурной активацией насосной активности клеток эндотелия позволяют сделать оценку функциональности образцов с точки зрения их пригодности в качестве трансплантатов. Резюмируя, можно отметить, что высокая скорость в тесте восстановления клеточного объема может указывать на высокое качество образца как материала для трансплантации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование динамики снижения клеточного объема эндотелия роговицы, содержания внутриклеточного натрия в клетках эндотелия, десвелинга матрикса роговицы при восстановлении функции после холодовой консервации дает объективное представление о транспортной компетентности этих клеток и пригодности консервированной роговицы для трансплантации.

Литература/References

1. Maurice D.M. The location of the fluid pump in the cornea. *J. Physiol.* 1972; 221 (1): 43–54. doi: 10.1113/jphysiol.1972.sp.009737
2. Bonanno J. A. Molecular mechanisms underlying the corneal endothelial pump. *Exp. Eye Res.* 2012; 95 (1): 2–7. doi: 10.1016/j.exer.2011.06.004
3. Nilsson L.M., Zhang L., Bondar A., et al. Prompt apoptotic response to high

- glucose in SGLT-expressing renal cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2019; 316: 1078–89. doi: 10.1152/ajprenal.00615.2018
4. *Srinivas S.P.* Dynamic regulation of barrier integrity of the corneal endothelium. *Optom. Vis. Sci.* 2010 Apr; 87 (4): E239–54. doi: 10.1097/OPX.0b013e3181d39464
 5. *Verkman A.S., Ruiz-Ederra J., Levin M. H.* Functions of aquaporins in the eye. *Prog. Retin. Eye Res.* 2008; 27 (4): 420–33. doi: 10.1016/j.preteyeres.2008.04.001
 6. *Hoffmann E.K., Lambert I.H., Pedersen S.F.* Physiology of cell volume regulation in vertebrates. *Physiol. Rev.* 2009; 89 (1): 193–277.
 7. *Wehner F., Shimizu T., Sabirov R., Okada Y.* Hypertonic activation of a non-selective cation conductance in HeLa cells and its contribution to cell volume regulation. *FEBS Lett.* 2003; 551 (1–3): 20–4. doi: 10.1016/s0014-5793(03)00868-8
 8. *Борзенко С.А., Малюгин Б.Э., Гаврилова Н.А., Комах Ю.А., Тонаева Х.Д.* Алгоритм заготовки трупных роговиц человека для трансплантации: Методические рекомендации. Москва: Офтальмология, 2016. [*Borzenok S.A., Maljugin B. Je., Gavrilova N.A., Komah Ju.A., Tonaeva H.D.* Algorithm for harvesting cadaveric human corneas for transplantation: Guidelines. *Oftalmologija.* 2016 (in Russian)].
 9. *Solenov E.I.* Cell volume and sodium content in rat kidney collecting duct principal cells during hypotonic shock. *J. Biophys.* 2008; 2008:420963. <https://doi.org/10.1155/2008/420963>
 10. *Solenov E., Watanabe H., Manley G.T., Verkman A.S.* Sevenfold-reduced osmotic water permeability in primary astrocyte cultures from AQP-4-deficient mice, measured by a fluorescence quenching method. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2004 Feb; 286 (2): C426–32. doi: 10.1152/ajpcell.00298.2003
 11. *Ilyashin A.V., Karpov D.I., Medvedev D.A., et al.* Quantitative estimation of transmembrane ion transport in rat renal collecting duct principal cells. *Gen. Physiol. Biophys.* 2014; 33: 13–28. doi: 10.4149/gpb_2013063
 12. *Kovbasnjuk O.N., Szmulowicz U., Spring K.R.* Regulation of the MDCK cell tight junction. *J. Membr. Biol.* 1998; 161 (1): 93–104. doi: 10.1007/s002329900317
 13. *Батурина Г.С., Пальчикова И.Г., Конев А.А. и др.* Исследование влияния гипотермической консервации на уровень натрия в клетках эндотелия трансплантата роговицы. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018; 22 (4): 433–7. [*Baturina G.S., Palchikova I.G., Konev A.A., et al.* Study of the effect of hypothermic conservation on the intracellular sodium concentration in the endothelium of corneal transplants. *Vavilov journal of genetics and breeding.* 2018; 22 (4): 433–7 (in Russian)]. doi 10.18699/VJ18.379

Вклад авторов в работу: Г.С. Батурина, Л.Е. Каткова, И.М. Кузеина, Е.И. Соленов — концепция и дизайн исследования, получение и обработка данных, анализ и интерпретация результатов, написание статьи; И.Г. Пальчикова, И.А. Исаков — концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация результатов, написание статьи, утверждение рукописи для публикации.

Authors' contribution: G.S. Baturina, L.E. Katkova, I.M. Kuzeina, E.I. Solenov — concept and design of research, data collection and processing, analysis and interpretation of results, writing of the article; I.G. Palchikova, I.A. Isakov — concept and design of research, analysis and interpretation of results, writing of the article, approval of the manuscript for publication.

Поступила: 04.02.2022. Переработана: 22.02.2022. Принята к печати: 02.03.2022
Originally received: 04.02.2022. Final revision: 22.02.2022. Accepted: 02.03.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ/INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН», пр-т акад. Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090, Россия

² ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», ул. Пирогова, д. 2, Новосибирск, 630090, Россия

³ ФГБУН «Конструкторско-технологический институт научного приборостроения Сибирского отделения РАН», ул. Русская, д. 41, Новосибирск, 630058, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный технический университет», пр-т Карла Маркса, д. 20, Новосибирск, 630073, Россия

Галина Сергеевна Батурина — канд. биол. наук, старший научный сотрудник сектора молекулярной физиологии клетки¹

Любовь Евгеньевна Каткова — канд. биол. наук, научный сотрудник сектора молекулярной физиологии клетки¹

Ирина Михайловна Кузеина — студентка²

Ирина Георгиевна Пальчикова — д-р техн. наук, доцент, заведующая лабораторией^{2,3}

Евгений Иванович Соленов — д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник^{1,2,4}
Новосибирский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, ул. Колхидская, д. 10, Новосибирск, 630096, Россия

Игорь Алексеевич Исаков — д-р мед. наук, заведующий операционным блоком

Для контактов: Игорь Алексеевич Исаков,
i.isakov@mntk.nsk.ru

¹ Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10 Lavrentyev Avenue, Novosibirsk, 630090, Russia

² Novosibirsk State University, 2, Pirogova, Novosibirsk, 630090, Russia
³ Technological Design Institute of Scientific Instrument Engineering, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 41, Russkay St., Novosibirsk, 630058, Russia

⁴ Novosibirsk State Technical University, 20, Karl Marx Avenue, Novosibirsk, 630073, Russia

Galina S. Baturina — Cand. of Biol. Sci., senior researcher of the department of cell molecular physiology¹

Liubov E. Katkova — Cand. of Biol. Sci., researcher of the department of cell molecular physiology¹

Irina M. Kuseina — student²

Irina G. Palchikova — Dr. of Techn. Sci., head of laboratory^{2,3}

Evgenii I. Solenov — Dr. of Biol. Sci., professor, principal Researcher of the department of cell molecular physiology^{1,2,4}

S. Fyodorov Eye Microsurgery Clinic, Novosibirsk Branch, 10, Kolkhidskaya St., Novosibirsk, 630096, Russia

Igor A. Isakov — Dr. of Med. Sci., head of surgery department

Contact information: Igor A. Isakov,
i.isakov@mntk.nsk.ru